

# PATENT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

ISHIDA, Takashi  
A. Aoki & Associates  
Toranomom 37 Mori Building  
5-1, Toranomom 3-chome  
Minato-ku  
Tokyo 105-8423  
JAPON

33



Date of mailing (day/month/year) 13 August 1998 (13.08.98)		IMPORTANT NOTICE	
Applicant's or agent's file reference F801-PCT			
International application No. PCT/JP98/00483	International filing date (day/month/year) 05 February 1998 (05.02.98)	Priority date (day/month/year) 05 February 1997 (05.02.97)	
Applicant SUNTORY LIMITED et al			

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:  
AU,CA,CN,EP,JP,KR,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:  
HU

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 13 August 1998 (13.08.98) under No. WO 98/34636

### REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

### REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No. (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer J. Zahra</p> <p>Telephone No. (41-22) 338.83.38</p>
---	---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



<b>(51) 国際特許分類6</b> <b>A61K 38/22, 45/00</b>	<b>A1</b>	<b>(11) 国際公開番号</b> <b>WO98/34636</b>  <b>(43) 国際公開日</b> 1998年8月13日(13.08.98)
<b>(21) 国際出願番号</b> PCT/JP98/00483 <b>(22) 国際出願日</b> 1998年2月5日(05.02.98) <b>(30) 優先権データ</b> 特願平9/22594 1997年2月5日(05.02.97) JP <b>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について)</b> サントリー株式会社(SUNTORY LIMITED)[JP/JP] 〒530-0004 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号 Osaka, (JP) <b>(72) 発明者 ; および</b> <b>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ)</b> 猪俣則夫(INOMATA, Norio)[JP/JP] 山木 明(YAMAKI, Akira)[JP/JP] 古谷真優美(FURUYA, Mayumi)[JP/JP] 日高寿範(HIDAKA, Toshinori)[JP/JP] 〒618-8503 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 サントリー株式会社 生物医学研究所内 Osaka, (JP) <b>(74) 代理人</b> 弁理士 石田 敬, 外(ISHIDA, Takashi et al.) 〒105-8423 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所 Tokyo, (JP)		<b>(81) 指定国</b> AU, CA, CN, HU, JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  <b>添付公開書類</b> 国際調査報告書
<b>(54) Title: MEDICINAL COMPOSITIONS FOR TREATING CARDIAC DISEASES CAUSED BY CARDIAC HYPERTROPHY</b> <b>(54) 発明の名称</b> 心肥大に基づく心臓病治療用医薬組成物  <b>(57) Abstract</b> Medicinal compositions for treating cardiac diseases caused by cardiac hypertrophy, such as cardiac failure, ischemic cardiac diseases and arrhythmia. These compositions contain, as the active ingredient, substances capable of binding to GC-A which is an NP receptor and promoting the production of cGMP. Examples of these active substances include natriuretic peptides such as atrial natriuretic peptides and cerebral natriuretic peptides.		

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/00483

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl<sup>6</sup> A61K38/22, A61K45/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>6</sup> A61K38/22

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Li Cao, "Natriuretic Peptides Inhibit DNA Synthesis in Cardiac Fibroblasts", Hypertension, Vol. 25, No. 2 (1995) p.227-234	1-5
X	Hirofumi Yasue, "Clinical Significance of ANP and BNP (in Japanese)", Medicine Today, Vol. 47, No. 1 (1992) p.93-101, particularly p.97, p.98, p.100	1-5
X	Hiroshi Ito, "Cardiomegaly, Cardiac Failure and Natriuretic Peptide Family", Strides of Medicine, Vol. 165, No. 10 (1993) p.739-744, particularly p.743	1-5
X	JP, 61-167624, A (Merck & Co., Inc.), July 29, 1986 (29. 07. 86), Particularly Claims & EP, 189084, A & US, 4652549, A	1-5

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date  
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
April 28, 1998 (28. 04. 98)

Date of mailing of the international search report  
May 12, 1998 (12. 05. 98)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

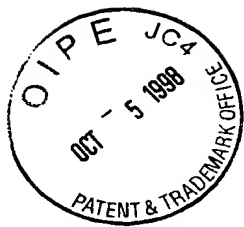
## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/00483

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP, 63-303998, A (Merrel Dow Pharmaceuticals Inc.), December 12, 1988 (12. 12. 88), Particularly page 6, lower left column, line 19 & EP, 291999, A	1-5
A	Lesley A. Brown, "Differential Regulation of Natriuretic Peptide Receptor Messenger RNAs during the Development of Cardiac Hypertrophy in the Rat", J. Postgrad. Med. Sch. Vol. 92, No. 6 (1993) p.2702-2712	1-5
Y	Meihong Lin, "Cicletanine Inhibits Endothelin-1- Induced Hypertrophy of Rat Cardiomyocytes", Pharmacometrics, Vol. 51, No. 1 (1996) p.1-6	1
Y	Chemical Abstracts, Vol. 122, Abstract Number 72083 (1995) (Gardner, David G. "Molecular biology of the natriuretic peptides", Vol. 4, No. 4 (1994) p.159-164)	1



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



PCT

E P



国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)  
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 F 8 0 1 - P C T	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 9 8 / 0 0 4 8 3	国際出願日 (日.月.年) 0 5 . 0 2 . 9 8	優先日 (日.月.年) 0 5 . 0 2 . 9 7
出願人(氏名又は名称) サ ン ト リ ー 株 式 会 社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

2. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

3. ☐ この国際出願は、ヌクレオチド及び/又はアミノ酸配列リストを含んでおり、次の配列リストに基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願と共に提出されたもの

☐ 出願人がこの国際出願とは別に提出したもの

☐ しかし、出願時の国際出願の開示の範囲を越える事項を含まない旨を記載した書面が添付されていない

☐ この国際調査機関が書換えたもの

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、  
第 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.<sup>8</sup> A61K38/22, A61K45/00

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.<sup>8</sup> A61K38/22

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	Li Cao, "Natriuretic Peptides Inhibit DNA Synthesis in Cardiac Fibroblasts", Hypertension, Vol. 25, No. 2 (1995) P. 227-234	1-5
X	泰江 弘文, 「ANPとBNPの臨床的意義」, 最新医学, Vol. 47, No. 1 (1992) P. 93-101, 特にP. 97, P. 98, P. 100	1-5
X	伊藤 裕, 「心肥大・心不全とナトリウム利尿ペプチドファミリー」, 医学の歩み, Vol. 165, No. 10 (1993) P.	1-5

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献  
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

28.04.98

国際調査報告の発送日

12.05.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 聖子

4C

9051

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	739-744, 特にP. 743	
X	J P. 61-167624. A (メルク エンド カムパニー インコーポレーテッド) 29. 7月. 1986 (29. 07. 86), 特にクレーム & EP, 189084, A & US, 4652549, A	1-5
X	J P. 63-303998. A (メレルダウファーマスーティカルズ インコーポレーテッド) 12. 12月. 1988 (12. 12. 88), 特に第6頁左下欄第19行目 & EP, 291999, A	1-5
A	Lesley A. Brown, "Differential Regulation of Natriuretic Peptide Receptor Messenger RNAs during the Development of Cardiac Hypertrophy in the Rat", J. Postgrad. Med. Sch. Vol. 92, No. 6 (1993) P. 2702-2712	1-5
Y	Meihong Lin, "Cicletanine Inhibits Endothelin-1-Induced Hypertrophy of Rat Cardiomyocytes", Pharmacometrics, Vol. 51, No. 1 (1996) P. 1-6	1
Y	Chemical Abstracts, Vol. 122, Abstract Number. 72083 (1995) (Gardner, David G. "Molecular biology of the natriuretic peptides", Vol. 4, No. 4 (1994) P. 159-164)	1

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



<b>(51) 国際特許分類6</b> <b>A61K 38/22, 45/00</b>	<b>A1</b>	<b>(11) 国際公開番号</b> <b>WO98/34636</b>  <b>(43) 国際公開日</b> 1998年8月13日(13.08.98)
<b>(21) 国際出願番号</b> PCT/JP98/00483 <b>(22) 国際出願日</b> 1998年2月5日(05.02.98) <b>(30) 優先権データ</b> 特願平9/22594 1997年2月5日(05.02.97) JP <b>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について)</b> サントリー株式会社(SUNTORY LIMITED)[JP/JP] 〒530-0004 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号 Osaka, (JP) <b>(72) 発明者 ; および</b> <b>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ)</b> 猪俣則夫(INOMATA, Norio)[JP/JP] 山本 明(YAMAKI, Akira)[JP/JP] 古谷真優美(FURUYA, Mayumi)[JP/JP] 日高寿範(HIDAKA, Toshinori)[JP/JP] 〒618-8503 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 サントリー株式会社 生物医学研究所内 Osaka, (JP) <b>(74) 代理人</b> 弁理士 石田 敬, 外(ISHIDA, Takashi et al.) 〒105-8423 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所 Tokyo, (JP)		<b>(81) 指定国</b> AU, CA, CN, HU, JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  <b>添付公開書類</b> 国際調査報告書
<b>(54) Title: MEDICINAL COMPOSITIONS FOR TREATING CARDIAC DISEASES CAUSED BY CARDIAC HYPERTROPHY</b> <b>(54) 発明の名称</b> 心肥大に基づく心臓病治療用医薬組成物  <b>(57) Abstract</b> Medicinal compositions for treating cardiac diseases caused by cardiac hypertrophy, such as cardiac failure, ischemic cardiac diseases and arrhythmia. These compositions contain, as the active ingredient, substances capable of binding to GC-A which is an NP receptor and promoting the production of cGMP. Examples of these active substances include natriuretic peptides such as atrial natriuretic peptides and cerebral natriuretic peptides.		

心不全、虚血性心疾患及び不整脈等の心臓病発症の原因である心肥大に基づく心臓病治療用医薬組成物を提供する。このため、NP受容体であるGC-Aに結合し、cGMP産生を亢進し得る物質を有効成分とする心肥大に基づく心臓病治療用医薬組成物を提供する。有効成分の具体例として、ナトリウム利尿ペプチド、例えば心房性ナトリウム利尿ペプチド、脳性ナトリウム利尿ペプチドが挙げられる。

PCTに基づいて公開される国際出願のパフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード（参考情報）

AL  
AM  
AT  
AU  
AZ  
BB  
BE  
BF  
BG  
J  
BR  
Y  
AF  
CG  
HI  
IM  
NU  
J  
YZ  
DE  
KE  
ES

ド アサオ アド アタ イン  
 ラス ア アー シン シュカ  
 シン ジナピア シン ス タル  
 イラボ園ルニニリンイスイタ本ニル朝国サンヒリペン  
 フフガ英クガガギギハイアイイ日ケキ北韓カセリスリレ

IRABEHMGNWRUDELSSTPEGPRRZCIKRRS  
 FFGGGGGGGGHIILIIJJKKKKLLLLL

TUVLMCDMGK  
LLLMCDMGK  
MLNMRWXMENLNZLPTRRUSSESSS  
アブルグ  
ニンイ  
アセウコドガディ  
トクトナダケヴィ  
リルラモママラマ  
モモメニオノ  
ニボルロス  
スシス  
ルタイエン  
グリウシエン  
ラキジエン  
メル  
エジドル  
ラン  
ンルア  
デニキ  
ポーエ  
アオー  
ネ

NZD G J M R T T U U V Y Z  
SSTTTTTRTAGSZNLW

セスタト  
ネウヤジ  
ガラド一  
ルン  
ランド  
タニ  
スタン  
ツナ  
コニ  
リク  
ウミ  
米  
国  
ベ  
キ  
ス  
エ  
ブ  
パ  
ユ  
ジ  
ン  
ダ  
タ  
ン  
・  
ト  
バ  
ゴ  
タ  
ム  
ラ  
ヴィ  
ア



## 明 細 書

## 心肥大に基づく心臓病治療用医薬組成物

## 技術分野

本発明は、ナトリウム利尿ペプチド（NP）受容体であるグアニリル・サイクラーゼA（GC-A）に作用し、サイクリックグアノシンモノフォスフェート（cGMP）産生を亢進し得る物質を有効成分とする心肥大に基づく心臓病治療用医薬組成物に関するものである。

## 背景技術

高血圧症や心弁膜症による心室への負荷の増大、あるいは心筋梗塞、心筋炎や心筋症などによる心筋細胞自体の障害が生じると、主に心筋細胞の肥大により心室は心拍出量を保つようにその形態を変化させ、いわゆる心肥大となる。このような心肥大は、ある程度までは心筋細胞障害や機械的負荷に対する適応現象と考えられるが、過剰な負荷が持続的に加わり肥大が著しいときには、収縮機能や拡張機能が破綻し、心拍出量が低下して慢性心不全に至るとともに、虚血状態に陥りやすく致死性の不整脈も発生しやすくなる。心肥大の程度は心臓病の予後を規定する要因の一つであると考えられ、フラミンガムスタディーを代表とする大規模前向き調査により、心肥大があると心不全を始め、狭心症や心筋梗塞などの虚血性心疾患、不整脈などの発病率が2.5～3倍に上昇することが判明している（山崎 力、矢崎義雄，心不全，p37-45，篠山重威編，医薬ジャーナル社，1997）。従って、過度の心肥大の形成を抑制する、あるいは心肥大を退縮させる薬剤は慢性心不全を含む心臓病の発症進展の防

御に有効であると考えられる。

慢性心不全に対する治療法としては、従来心臓の収縮力を改善し、心拍出量を増大する目的で強心薬が主に用いられてきた。しかしながら、強心薬は急性的に自覚症状改善効果、運動耐容能改善効果を示すものの、慢性心不全治療の最終目標である生命予後の改善、すなわち延命効果の面では効果がなく、むしろ予後を悪くするという結果が得られている (Packer et al., N. Engl. J. Med., Vol.325, p1468, 1991)。

一方、心肥大の発生・進展には、カテコールアミン、アンジオテンシン II、アルドステロン、エンドセリン、バソプレッシンなどの神経体液性因子が関与することが示唆されており、これらの因子の産生あるいは情報伝達系を阻害する薬剤の開発、臨床応用が進められている。しかし、生体内において心肥大の発生機序にはこれら因子の複数が関わっており、単一の因子に対する拮抗作用だけでは不十分であることが予想される。例えば、アンジオテンシン II を産生する酵素であるアンジオテンシン変換酵素 (ACE) の阻害剤は、動物モデルにおいて心肥大の発症進展を抑制し (Brilla et al., Circulation, Vol.83, p1771, 1991)、臨床的にも慢性心不全患者に投与した場合、心肥大を退縮させ、生命予後を延長することが観察されているが (The Save Investigation, N. Engl. J. Med., Vol.327, p678, 1992)、その効果は未だ十分なものとは言えない。

実際に、最先端の治療を行っても慢性心不全の発症後 5 年間の死亡率は現在なお約 50% に達している。最近エンドセリン拮抗薬 (Ito et al., Circulation, Vol.89, p2198, 1994) やバソプレッシン拮抗薬 (Tomura et al, Circulation, Vol.94 (Supple. I-264), 1996) が動物モデルにおいて心肥大の形成を抑制することが報告

されているが、さらに新しいメカニズムに基づき心肥大を抑制する心臓病治療薬の開発が望まれている。

#### 発明の開示

従って、本発明の目的は慢性心不全などの心臓病の発症進展に関わる心肥大の防止に有効な医薬組成物を提供することであり、更に詳しくは、ナトリウム利尿ペプチド（NP）受容体であるGC-Aに結合し、cGMP産生を亢進し得る物質を有効成分とする心肥大に基づく心臓病治療用医薬組成物を提供することである。

#### 図面の簡単な説明

図1は、大動脈狭窄によるラット心肥大モデルにおいて、狭窄直後よりANP  $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ 又は5%グルコースを1週間投与した場合のSham群、対照群及びANP投与群の尿排泄量（A）、及び尿中ナトリウム排泄量（B）の経時変化を示す図である。△はSham群（ $n=19$ ）を、▲は対照群（ $n=20$ ）を、●はANP群（ $n=12$ ）を各々示す。また、各値は平均値±標準誤差を示す。

図2は、腹部大動静脈シャントによるラット心不全モデルにおいて、手術2週間後よりANP  $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ 又は5%グルコースを2週間投与した場合のSham群、対照群及びANP投与群の右心房重量／体重比（A）、左心房重量／体重比（B）、右心室重量／体重比（C）、左心室重量／体重比（D）を示す図である。各値は6例の平均値±標準誤差を示す。また、\*及び\*\*は各々 $p < 0.05$ 、 $0.01$ でSham群との間に有意差があることを示し、#及び##は各々 $p < 0.05$ 、 $0.01$ で対照群との間に有意差があることを示す。有意差はANOVAの分散分析法にて検

定した。

図 3 は、図 2 と同様の条件における、試験終了時の S h a m 群、対照群、及び A N P 投与群の肺重量／体重比（A）、ヘマトクリット値（B）を示す図である。各値は 6 例の平均値±標準誤差を示す。＊及び＊＊は各々  $p < 0.05$ 、 $0.01$  で S h a m 群との間に有意差があることを示し、＃及び＃＃は各々  $p < 0.05$ 、 $0.01$  で対照群との間に有意差があることを示す。有意差は A N O V A の分散分析法にて検定した。

#### 発明を実施するための形態

本発明は、ナトリウム利尿ペプチド（N P）受容体であるグアニリル・サイクラーゼ A（G C - A）に作用し、サイクリックグアノシンモノフォスフェート（c G M P）産生を亢進し得る物質を有効成分とする心肥大に基づく心臓病治療用医薬組成物に関するものである。心肥大に基づく心臓病の具体例としては心不全（例えば、慢性心不全）、虚血性心疾患（例えば、心筋梗塞、狭心症）及び不整脈等が挙げられる。

本発明に係る医薬組成物の有効成分として用い得る物質は、N P 受容体である G C - A を介して c G M P 産生を亢進し得る特性を有する物質であればよく、特に特定されるのではない。当該特性を有する物質は、候補物質を G C - A を発現する細胞又は組織（例えば、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、副腎皮質球状層細胞や G C - A を強制発現させた細胞、または大動脈、肺動脈、腎糸球体、副腎皮質等）に添加し、インキュベーションした際に、c G M P 分解酵素であるホスホジエステラーゼの阻害剤存在下で、（１）細胞内 c G M P 濃度を測定することにより当該活性を上昇させることができる物質として、又は（２）G C - A を発現する細胞若しくは組織の膜

画分においてグアニリル・サイクラーゼ活性を測定することにより当該活性を上昇させることができる物質として得ることができる。なお、上記測定方法は公知の方法を用いることができ、例えば、Minamitake, Y. et al, Biochem. Biophys. Res. Commun., 172, 971-978 (1990), Furuya, M., et al. Biochem. Biophys. Res. Commun., 170, 201-208 (1990), Furuya, M., et al. Biochem. Biophys. Res. Commun., 177, 927-931 (1991)、日高寿範ら日薬理誌、101, 309-325 (1993)等に記載される方法を用いることができる。上記特性を有する物質として、好ましくはナトリウム利尿ペプチド (NP) が挙げられ、更に好ましくは心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) や脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) 等が挙げられる。

更にANPとしては28個のアミノ酸よりなるヒト由来 $\alpha$ -hANP (Kangawa et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., Vol.118, p131, 1984) (配列番号: 1) やラット由来 $\alpha$ -rANP (Kangawa et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., Vol.121, p585, 1984) (配列番号: 2) を用いることができるが、本発明に係る有効成分のペプチドとしては、ANPのリング構造 (Cysに基づくジスルフィド結合の形成) 及びリング構造に続くC末端部を有するペプチドであればよい。当該ペプチドとしては $\alpha$ -hANPの7-28位のアミノ酸残基を有するペプチド (配列番号: 3) が挙げられる。ANPとしては特にヒト由来の $\alpha$ -hANPが望ましい。

また、BNPとしては32個のアミノ酸よりなるヒトBNP (Sudoh et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., Vol.159, p1420, 1989) (配列番号: 4) 等が挙げられる。

上記物質 (例えば、 $\alpha$ -hANP) に係るアミノ酸配列に基づき、当業者であれば適宜公知の方法により、当該配列中のアミノ酸残基を欠失、置換、付加、挿入等の修飾を施すことが可能であり、得

られたペプチドがANPの受容体であるGC-Aに作用し、cGMP産生を亢進し得るペプチドであればいずれも用いることができる。

また、当該ペプチドは天然から純粹に単離・精製されたもの、化学合成法又は遺伝子組換え法により製造されたものの何れをも用いることができる。これらのペプチドとしては、前記のものの他に、カエルANP（配列番号：5）、ブタBNP（配列番号：6）、ラットBNP（配列番号：7）、ニワトリNP（配列番号：8）などが挙げられる。

更に、本発明の医薬組成物の有効成分に係る物質は、無機酸、例えば塩酸、硫酸、リン酸、あるいは有機酸、例えばギ酸、酢酸、酪酸、コハク酸、クエン酸等の酸付加塩として用いることができる。ナトリウム、カリウム、リチウム、カルシウム等の金属塩、有機塩基による塩の形態であってもよい。また、本発明に係る医薬組成物は、その有効成分に係る物質の遊離形としても、又はその医薬的に許容し得る塩であってもよい。

本発明に係る物質又はその薬理学的に許容し得る塩は、自体公知の薬理学的に許容し得る担体、賦形剤、希釈剤などと混合して医薬に一般に使用されている投与方法、即ち経口投与方法、又は静脈内投与、筋肉内投与若しくは皮下投与等の非経口投与方法によって投与するのが好ましい。

有効成分がペプチドの場合、経口投与では消化管内で分解を受けるため、この投与方法は一般的には効果的でないが、消化管内で分解を受けにくい製剤、例えば活性成分であるペプチドをリボゾーム中に包容したマイクロカプセル剤として経口投与することも可能である。また、直腸、鼻内、舌下などの消化管以外の粘膜から吸収せしめる投与方法も可能である。この場合は坐剤、点鼻スプレー、舌

下錠といった形態で投与することができる。

本発明に係る医薬組成物の投与量は、疾患の種類、患者の年齢、体重、症状の程度及び投与経路などによっても異なるが、一般的に  $0.1 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 100 \text{mg} / \text{kg}$  の範囲で投与することができ、 $0.5 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 5 \text{mg} / \text{kg}$  で投与するのが好ましい。

ANPは心臓より分泌され、水電解質代謝及び血圧の調節に重要な役割を果たすペプチドホルモンである。ANPの受容体は膜結合型グアニリル・サイクラーゼ構造をとり、GC-AあるいはNPR-Aと称されている。すなわち、ANPはGC-Aに結合し、細胞内のcGMPを上昇させることにより利尿・血管拡張作用などの生理作用を発現する。

ヒト及びモデル動物において、心肥大及び心不全の重症度に伴い、血中ANP濃度が上昇することが知られている。また、ANPは正常心臓では主として心房で合成されるが、心肥大時には心室でのANP産生も著明に増加する。このように病態の進展に伴い産生亢進されるANPは心不全に対する代償機構として生体防御的に作用していると考えられている。実際に心不全患者においてANPの短期間（1～24時間）の投与により血管拡張作用及び利尿作用が発現し、心臓の前負荷、後負荷が軽減され、血行動態改善効果が認められている。

しかし、心肥大に対してANPがいかなる作用を有するかについては明らかにされていない。一方、CaoらはANPが*in vitro*において培養心線維芽細胞のDNA合成を阻害することを報告している（Cao et al, Hypertension, Vol.25, p227, 1995）が、心室において最も大きな容量（約70%）を占め、心肥大の中心的役割を果たす心筋細胞の肥大に対するANPの作用は未だ検討されていない。

更に、生体内でANPの代謝分解に関与する中性エンドペプチダーゼ（NEP, EC 3. 4. 24. 11）の阻害剤が容量負荷により誘発した心肥大モデルラットにおいて、利尿作用及び軽度の心肥大抑制作用を示すことが報告されているが、この時の血中ANP濃度の上昇は明確でなく、また、NEPはANPのみならずブラジキニンなど他のペプチドホルモンの代謝にも関わることから、利尿作用や心肥大抑制作用がANPの分解を抑制したことに基づく、即ちANPの作用を反映したものかどうかは明らかでない（Willenbrock et al., Hypertension, Vol.27, p1259, 1996）。

このように、現在ANPそのものの投与により心肥大の発症が抑制される、あるいは心肥大が退縮されるか否かは判っていない。

従って、本発明者らは圧負荷心肥大モデルを用いて後述の方法によりANP持続投与による心肥大発生予防効果及び退縮効果を検討した。

また、心肥大は、高血圧による圧負荷の亢進、弁膜症による容量負荷の亢進など種々の要因によってもたらされる。そこで、ANPの心肥大抑制効果をさらに明らかにするために、前述した高血圧性の圧負荷型心肥大モデルに加えて後述の方法により容量負荷型心肥大モデルであるラット腹部動静脈シャントモデルを作製し、ANPの心肥大抑制効果を検討した。更に、本モデルでは慢性心不全の主要な症状の一つである肺うっ血も呈することから、ANPの肺うっ血軽減効果についても検討した。

A. 圧負荷型心肥大モデルを用いた心肥大発生予防効果及び退縮効果の実験方法

#### 1. 圧負荷によるラット心肥大モデルの作製方法

実験にはSprague-Dawley系の9週齢雄性ラットを用いた。ペントバルビタールナトリウム（40mg/kg）の腹腔



内投与によりラットを麻酔し、腹臥位に固定した。開腹後、腹部大動脈を露出させ、左右の腎動脈間の部分を剝離した。21G注射針を大動脈に沿わせ、左右の腎動脈間で大動脈とともに絹糸で結紮し、その後注射針を引き抜くことにより、大動脈狭窄を行った。本モデルにおいてはこのような腹部大動脈狭窄により収縮期血圧が上昇し、心臓の後負荷が増大して、左心室の肥大が生じる。偽手術 [Sham-operation (Sham)] 群には腹部大動脈の剝離のみを施した。

## 2. ANPの投与方法

ペントバルビタールナトリウム (40 mg/kg) の腹腔内投与による麻酔下で、ラット頸部を切開し、右頸静脈にシリコンカテーテルを挿入し、背部で固定後、カテーテルを微量注入ポンプに接続した。ヒト型ANP ( $\alpha$ -hANP) は5%グルコースに溶解し、 $0.1 \mu\text{g/kg/分}$  の速度で静脈内に持続投与した。対照群及びSham群には5%グルコースを  $2.5 \mu\text{l/分}$  の速度で持続静脈内投与した。

## 3. 評価方法

試験終了時に、ペントバルビタールナトリウム (40 mg/kg) の腹腔内投与によりラットを麻酔し、左頸動脈にポリエチレンカテーテルを挿入し、圧トランスデューサーを介して血圧及び心拍数を測定した。その後、血漿中  $\alpha$ -hANP 及び rat ANP 濃度及びANPの細胞内情報伝達のセカンドメッセンジャーであるcGMP濃度を測定するために、1% (w/v) EDTA・2Na及び5000 KIU/mlのアプロチニンを1/10容量含む注射筒を用いて頸動脈より血液2mlを採取した。血液は直ちに4℃にて遠心分離し、得られた血漿を-80℃にて保存した。血漿中  $\alpha$ -hANP、rat ANP 及びcGMPは、それぞれ抗  $\alpha$ -hANP ウ

サギ血清、抗 r a t A N P ウサギ血清及び抗サクシニル化 c G M P モノクローナル抗体を用いたラジオイムノアッセイ法にて測定した。さらに、採血後過剰量のペントバルビタールナトリウムを静脈内投与してラットを致死せしめ、体重を測定した後、心臓を摘出し、左心室及び右心室を分離し、それぞれの重量を測定した。体重に対する左心室重量の比率を心肥大の指標とした。

B. 容量負荷型心肥大モデルを用いた心肥大抑制効果及び肺うっ血軽減効果の実験方法

### 1. 容量負荷によるラット心肥大モデルの作製方法

実験には S p r a g u e - D a w l e y 系の 9 週齢雄性ラットを用いた。ペントバルビタールナトリウム ( 4 0 m g / k g ) の腹腔内投与によりラットを麻酔し、腹臥位に固定した。開腹後、腹部大動静脈を露出させ、大動脈の腎動脈分岐部及び大腿動脈分岐部において、それぞれクランプで血流を停止した。止血した部位で大動脈内に 1 8 G 注射針を挿入し、大静脈へと貫通させ、動静脈シャントを作製した。注射針を引き抜き、動脈部の傷口を手術用接着剤で塞ぎ、クランプをはずした。シャント部で静脈内に動脈血が流入するのを確認した後、閉腹した。本モデルにおいてはこのような腹部大動静脈シャントの形成により、静脈圧が上昇し、心臓の前負荷が増大して、右心房、右心室、左心房、左心室の順に負荷が加わり肥大が生じる。さらに、静脈系のコンプライアンスが低いため血液が貯流し、肺うっ血を呈する。偽手術 [ Sham-operation ( S h a m ) ] 群には腹部大動静脈の剝離のみを施した。

### 2. A N P の投与方法

圧負荷型心肥大モデルの場合と同様の方法で投与した。

### 3. 評価方法

試験終了時に、ペントバルビタールナトリウム ( 4 0 m g / k g

）の腹腔内投与によりラットを麻酔し、左頸動脈及び左頸静脈にポリエチレンカテーテルを挿入し、それぞれ血圧、心拍数、及び右心房圧を測定した。その後、血漿中 $\alpha$ -hANP及びrat ANP濃度を測定するために、1% (w/v) EDTA・2Na及び5000 KIU/mlのアプロチニンを含む注射筒を用いて頸動脈より血液2 mlを採取した。血液は直ちに4℃にて遠心分離し、得られた血漿を-80℃にて保存した。血漿中 $\alpha$ -hANP及びrat ANP濃度は、それぞれ抗 $\alpha$ -hANPウサギ血清及び抗rat ANPウサギ血清を用いたラジオイムノアッセイ法にて測定した。また、動脈血をヘマトクリット管に採取し、遠心分離後ヘマトクリット値を測定した。さらに、採血後過剰量のペントバルビタールナトリウムを静脈内投与してラットを致死せしめ、体重を測定した後、心臓を摘出し、右心房、左心房、右心室、左心室、及び肺を分離し、それぞれの重量を測定した。体重に対する各心重量及び肺重量の比率を心肥大、及び肺うっ血の指標とした。

## 実施例

以下に、本発明を実施例により更に具体的に説明する。

### 実施例 1. ANPの心肥大発症予防効果の検討

本発明者らはまずANPの心肥大発症予防効果について検討した。ラットに腹部大動脈狭窄手術あるいは偽手術を施した直後に頸静脈にシリコンカテーテルを挿入し、 $\alpha$ -hANP 0.1  $\mu$ g/kg/分、又は5%グルコースを2.5  $\mu$ l/分の速度で1週間持続静脈内投与した。1週間後にラットの血行動態を麻酔下に測定し、採血した後屠殺し、心重量を測定した。結果を表1に示す。

表 1: 腹部大動脈狭窄ラットにおける ANP 1 週間持続投与の体重、心重量、血圧および心拍数に対する作用

グループ	動物数	体重 (g)	収縮期血圧 (mmHg)	心拍数 (beats/分)	左心室重量 (mg)	左心室重量/ 体重 (mg/g)	右心室重量 (mg)	右心室重量/ 体重 (mg/g)
Sham	19	282 ± 2	146 ± 3	450 ± 7	565 ± 10	2.01 ± 0.03	154 ± 3	0.54 ± 0.01
対照	20	269 ± 4	188 ± 5 <sup>**</sup>	470 ± 10	628 ± 12 <sup>**</sup>	2.34 ± 0.07 <sup>**</sup>	149 ± 4	0.56 ± 0.02
ANP	12	283 ± 3	188 ± 8 <sup>**</sup>	465 ± 7	592 ± 10	2.09 ± 0.04 <sup>#</sup>	147 ± 4	0.52 ± 0.02

Sham 群は偽手術、対照群および ANP 群には腹部大動脈狭窄手術を行い、Sham 群および対照群には 5% グルコース 2.5 μl/分、ANP 群には α-hANP 0.1 μg/kg/分を手術直後より 1 週間持続静脈内投与した。

各値は平均値 ± 標準誤差を表す。

\*, \*\*: p<0.05 または 0.01. Sham 群との間の有意差を ANOVA の分散分析法により検定した。

# : p<0.05. 対照群との間の有意差を ANOVA の分散分析法により検定した。

表 1 に示されるように、大動脈狭窄手術及び薬物投与開始 1 週間後において S h a m 群、対照群と A N P 投与群との間の体重及び心拍数には有意な差異は見られなかった。対照群では大動脈狭窄による血管抵抗の増大により S h a m 群に比べ有意な収縮期血圧の上昇が見られ、A N P 投与によりこの血圧変化に対する影響は観察されなかった。一方、対照群においては S h a m 群と比べて有意に左心室重量が増加し、心肥大の指標とした左心室重量／体重比 (m g / g) も  $2.01 \pm 0.03$  から  $2.34 \pm 0.07$  に有意に増大したが、A N P 投与群では左心室重量の増加は少なく、左心室重量／体重比 (m g / g) は  $2.09 \pm 0.04$  と対照群と比べて有意に小さかった。右心室重量／体重比には各群間で差異はなかった。

A N P 投与群において投与 7 日目の血漿中  $\alpha$ -h A N P 濃度は  $502 \pm 72$  p g / m l (約  $0.17$  n M) であった。また、A N P の細胞内情報伝達のセカンドメッセンジャーである c G M P の血漿中濃度は A N P 投与群で  $5.3 \pm 0.4$  p m o l e / m l であり、S h a m 群及び対照群 (それぞれ  $2.0 \pm 0.3$ , 及び  $3.4 \pm 0.5$  p m o l e / m l) に比べて高値を示し、持続的に A N P が静脈内投与されたことが確認された。

また、血漿中の内因性ラット A N P 濃度は S h a m 群で  $83 \pm 8$  p g / m l であったのに対し、対照群では  $139 \pm 19$  p g / m l に有意に上昇していたが、これは大動脈狭窄による心臓の負荷に対して代償的に内因性 A N P の分泌が亢進したことを示唆する。

一方、A N P 投与群における内因性ラット A N P 濃度は  $113 \pm 10$  p g / m l と低値傾向を示し、心肥大形成が抑制されたことを反映するものであった。

また、本試験においては  $\alpha$ -h A N P 投与開始後ラットを代謝ケージにて飼育し、24 時間ごとに尿を採取し、尿量及び尿中ナトリ

ウム排泄量も測定した。図 1 に示されるように投与期間中の尿量及び尿中 Na 排泄量には各群間で有意な差異は認められず、本モデルでは ANP 投与による利尿作用は観察されなかった。

このように、ANP の 1 週間持続静脈内投与により心肥大の形成が抑制されることが示された。この時、体重及び右心室重量には影響がなかったことから、ANP の作用は負荷を受けた左心室に特異的なものであり、全身的な代謝障害や細胞毒性によるものではないと考えられた。また、本モデルにおいて今回用いた用量 ( $0.1 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{min}$ ) では ANP の利尿作用や降圧作用が観察されなかったことから、ANP は心臓に直接作用し、心肥大の発症を抑制したと考えられた。

#### 実施例 2. ANP の心肥大退縮効果の検討

次に、実施例 1 に示したプロトコールに従って、既に心肥大が生じた後に ANP を持続投与し、心肥大退縮効果を有する可能性について検討した。

ラットに腹部大動脈狭窄手術あるいは偽手術を施した後 15 週間放置し、心肥大が定常状態に達した後に、頸静脈にシリコンカテーテルを挿入し、 $\alpha\text{-hANP}$   $0.1 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{分}$ 、又は 5 % グルコースを  $2.5 \mu\text{l} / \text{分}$  の速度で 3 週間持続静脈内投与した。投与開始 3 週間後にラットの血行動態を麻酔下に測定し、採血した後屠殺し、心重量を測定した。表 2 に Sham 群、対照群及び ANP 投与群における薬物投与終了時の心重量及び血行動態の測定値を示した。

表 2 : 腹部大動脈狭窄手術 15 週間後のラットにおける ANP 3 週間持続投与の体重、心重量、血圧および心拍数に対する作用

グループ	動物数	体重 (g)	収縮期血圧 (mmHg)	心拍数 (beats/分)	左心室重量 (mg)	左心室重量/ 体重 (mg/g)	右心室重量 (mg)	右心室重量/ 体重 (mg/g)
Sham	9	523 ± 11	136 ± 8	380 ± 16	938 ± 15	1.80 ± 0.04	217 ± 6	0.42 ± 0.02
対照	9	492 ± 10	214 ± 8 <sup>**</sup>	428 ± 14 <sup>*</sup>	1171 ± 25 <sup>**</sup>	2.38 ± 0.05 <sup>**</sup>	214 ± 6	0.44 ± 0.01
ANP	12	502 ± 9	205 ± 8 <sup>**</sup>	451 ± 9 <sup>**</sup>	1056 ± 20 <sup>**, ##</sup>	2.11 ± 0.06 <sup>**, ##</sup>	220 ± 4	0.44 ± 0.01

Sham 群は偽手術、対照群および ANP 群には腹部大動脈狭窄手術を行い、Sham 群および対照群には 5% グルコース 2.5 μl/分、ANP 群には α-hANP 0.1 μg/kg/分を手術 15 週間後より 3 週間持続静脈内投与した。

各値は平均値 ± 標準誤差を表す。

\*, \*\*: p < 0.05 または 0.01. Sham 群との間の有意差を ANOVA の分散分析法により検定した。

##: p < 0.01. 対照群との間の有意差を ANOVA の分散分析法により検定した。

表 2 に示されるように各群の体重には有意な差はなかった。対照群では大動脈狭窄による血管抵抗の増大により S h a m 群に比べ有意な収縮期血圧の上昇が見られ、A N P 投与群においても対照群と同様に血圧が上昇し、A N P による血圧への影響は観察されなかった。心拍数は対照群及び A N P 投与群で S h a m 群より有意に増加していた。

一方、左心室重量及び心肥大の指標である左心室重量／体重比（m g / g）は S h a m 群（ $1.80 \pm 0.04$ ）と比し、対照群（ $2.36 \pm 0.05$ ）及び A N P 投与群（ $2.11 \pm 0.06$ ）で有意に増加し、心肥大が見られたが、A N P 投与群では対照群に比べて有意に低値を示し、心肥大が軽減していた。右心室重量／体重比には各群間で差異はなく、A N P の心重量低下作用は肥大した左心室に特異的であった。

なお、薬物投与を開始した手術 15 週間後における左心室重量は、S h a m 群で  $937 \pm 23$  m g、対照群で  $1199 \pm 28$  m g（各  $n = 3$ ）であり、対照群で S h a m 群に比べて著明な心重量の増加、即ち心肥大の形成が認められた。この時の心重量は薬物投与終了時（18 週間後）と差異がなかったことから [S h a m 群,  $938 \pm 15$  m g；対照群,  $1171 \pm 25$  m g（各  $n = 9$ ）]、圧負荷による心肥大は手術 15 週後までに完成し定常状態に達し、薬物投与期間中（手術後 15～18 週）、心肥大のさらなる進展は殆どなかったことが示された。従って、手術 15 週後から A N P を投与することにより左心室重量／体重比が低下したことは、A N P が既に形成された心肥大を退縮させる効果を持つことを示唆するものである。

この時、内因性ラット A N P 濃度は S h a m 群で  $70 \pm 5$  p g / m l であったのに対し、対照群では  $126 \pm 9$  p g / m l に有意に



上昇し、ANP投与群では低下傾向にあった ( $105 \pm 18 \text{ pg/ml}$ )。また、ANP投与群における投与終了時の血漿中 $\alpha$ -hANP濃度は  $426 \pm 53 \text{ pg/ml}$  (約  $0.14 \text{ nM}$ ) であった。

このように、ANPは心肥大の発生のみならず、既に発症した心肥大を退縮させる効果を示した。

### 実施例 3. ANPの心肥大及び肺うっ血軽減効果の検討

ラットに腹部大動静脈シャント形成術又はSham手術を施した2週間後より、 $\alpha$ -hANP  $0.1 \mu\text{g/kg/分}$ 、又は5%グルコースを  $2.5 \mu\text{l/分}$  の速度で2週間持続投与し、ANPの心肥大及び肺うっ血に対する作用を検討した。表3にSham群、対照群及びANP投与群における薬物投与終了時の体重及び血行動態の測定値を示した。

表3： 腹部大動静脈シャント手術2週間後のラットにおけるANP 2週間持続投与の体重、血圧、心拍数および右心房圧に対する作用

グループ	動物数	体重 (g)	収縮期血圧 (mmHg)	心拍数 (beats/分)	右心房圧 (mmHg)
Sham	6	375 ± 10	148 ± 7	434 ± 21	7.3 ± 0.5
対照	6	373 ± 12	145 ± 6	436 ± 18	13.6 ± 2.6 <sup>**</sup>
ANP	6	369 ± 9	143 ± 4	460 ± 14	12.6 ± 0.7 <sup>*</sup>

Sham群は偽手術、対照群およびANP群には腹部大動静脈シャント手術を行い、Sham群および対照群には5%グルコース2.5μl/分、ANP群にはα-hANP 0.1μg/kg/分を手術2週間後より2週間持続静脈内投与した。

各値は平均値±標準誤差を表す。

\*, \*\*: p<0.05 または 0.01. Sham群との間の有意差をANOVAの分散分析法により検討した。

表 3 に示されるように各群の体重に有意な差はなかった。平均血圧及び心拍数にも各群間で差異はなかった。対照群では動静脈シャントによる容量負荷の増大により S h a m 群に比べ有意な右心房圧の上昇が見られた。A N P 投与群においても対照群と同様に右心房圧が上昇し、A N P による血行動態への影響は観察されなかった。

また、心肥大の指標である右心房、左心房、右心室及び左心室重量の体重比 (m g / g) を図 2 に示した。全ての部位において、S h a m 群と比し、対照群で有意に値が増加し、著明な心肥大が形成されていた。一方、A N P 投与群では対照群に比べて、右心房、右心室、左心房重量、左心室重量 / 体重比のいずれにおいても有意に低下し、心肥大の形成が抑制された。

更に、肺うっ血の指標として肺重量 / 体重比 (m g / g) 及びヘマトクリット値 (%) を図 3 に示した。肺重量 / 体重比において対照群では S h a m 群に比べ有意に高い値を示したが [S h a m 群,  $4.02 \pm 0.13$ ; 対照群,  $4.81 \pm 0.17$ ]、A N P 群では S h a m 群と同程度にまで値が低下し ( $4.06 \pm 0.25$ )、A N P による肺うっ血軽減作用が認められた。ヘマトクリット値においても、S h a m 群に比べ、対照群では低値を示したことから、血液量の増大、即ち全身的なうっ血傾向が示唆され、A N P 群では値が改善した。

本モデルにおいても今回用いた用量 ( $0.1 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{分}$ ) では A N P が血圧、右心房圧に影響しなかったことから、A N P は心臓に直接作用し、心肥大の発症を抑制したと考えられる。この時、内因性ラット A N P 濃度は S h a m 群で  $43 \pm 11 \text{ pg} / \text{ml}$  であったのに対し、対照群では  $854 \pm 265 \text{ pg} / \text{ml}$  に著明に上昇し、A N P 投与群では有意に低下した ( $419 \pm 202 \text{ pg} / \text{ml}$ )。これらの結果はシャント手術による心肥大の形成、及び A N P

投与が心肥大を抑制した結果を裏付けるものである。また、ANP投与群における投与終了時の血漿中 $\alpha$ -hANP濃度は $329 \pm 113$  pg/ml (約 $0.11$  nM)であった。

なお、薬物投与を開始した手術2週間後においては、Sham群に比べ対照群でわずかに右心房重量/体重比の増加が見られたが(Sham群; $0.10 \pm 0.01$  (n=6), 対照群; $0.13 \pm 0.004$  (n=8))、左心房、右心室、左心室、肺重量/体重比に両群で差異はなく、血漿中ラットANP濃度もわずかに上昇傾向を示したのみであった(Sham群; $34 \pm 3$  pg/ml (n=6), 対照群; $47 \pm 8$  pg/ml (n=8))。このように、腹部大動静脈シャント手術2週間後においてはほとんど病態は発症しておらず、2週間後から4週間後にかけて病態が進行したと考えられる。従って、ANPを手術2週間後から4週間まで投与することにより心肥大や肺うっ血の発症が抑制されたことが示唆される。

以上のように、ANPは圧負荷による高血圧性左心室肥大のみならず、容量負荷による心肥大の形成も抑制すること、また、心肥大の発症のみならず、肺うっ血軽減の面でも有効であることを示した。

#### 産業上の利用可能性

本発明により、ナトリウム利尿ペプチド受容体GC-Aに作用し、cGMP産生を亢進し得る物質を有効成分とする組成物が慢性心不全などの心臓病の発症進展に関わる心肥大の防止に有効であることが証明された。特に、有効成分としてANPを用いた場合、圧負荷心肥大モデルにおいて、ANPが心肥大の形成過程を抑制したのみならず退縮効果を示したことは、既に心肥大を発症した患者に用いた場合の治療効果を示唆し、臨床上有用である。

また、容量負荷心肥大モデルにおいても A N P が心肥大抑制効果を示し、更に肺うっ血軽減作用も示したことから、慢性心不全の主要な症状で、呼吸困難を引き起こす原因となる肺うっ血を有する患者に用いた場合の効果が示唆された。更に、A N P は血圧や心拍数、尿量に影響しない用量において心肥大や肺うっ血抑制作用を示しており、血行動態の面での副作用が少なく、安全に使用できると考えられる。

これらのことから、A N P は高血圧や弁膜症、あるいは心筋梗塞などに基づく心肥大を改善し、さらに、心機能不全の結果として生じる肺うっ血を改善し得ることが十分に示唆された。心肥大はそれ自体が虚血性心疾患、不整脈や慢性心不全の独立した危険因子であり、特に慢性心不全は死亡率の高い予後不良の疾患である。よって、心肥大を改善し、心臓への負荷を軽減するのに有効な新しい薬剤に対する要望が非常に高い現状において、本発明に係る心肥大に基づく心臓病治療用医薬組成物は非常に有用である。

## 配列表

配列番号 : 1

配列の長さ : 28

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

## 配列

Ser Leu Arg Arg Ser Ser Cys Phe Gly Gly Arg Met Asp Arg Ile Gly

1 5 10 15

Ala Gln Ser Gly Leu Gly Cys Asn Ser Phe Arg Tyr

20 25

配列番号 : 2

配列の長さ : 28

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

## 配列

Ser Leu Arg Arg Ser Ser Cys Phe Gly Gly Arg Ile Asp Arg Ile Gly

1 5 10 15

Ala Gln Ser Gly Leu Gly Cys Asn Ser Phe Arg Tyr

20 25

配列番号 : 3

配列の長さ : 22

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

## 配列

Cys Phe Gly Gly Arg Met Asp Arg Ile Gly Ala Gln Ser Gly Leu Gly

1 5 10 15

Cys Asn Ser Phe Arg Tyr

20

配列番号 : 4

配列の長さ : 3 2

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

配列

Ser Pro Lys Met Val Gln Gly Ser Gly Cys Phe Gly Arg Lys Met Asp

1 5 10 15

Arg Ile Ser Ser Ser Ser Gly Leu Gly Cys Lys Val Leu Arg Arg His

20 25 30

配列番号 : 5

配列の長さ : 2 4

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

配列

Ser Ser Asp Cys Phe Gly Ser Arg Ile Asp Arg Ile Gly Ala Gln Ser

1 5 10 15

Gly Met Gly Cys Gly Arg Arg Phe

20

配列番号 : 6

配列の長さ : 3 2

配列の型 : アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列

Ser Pro Lys Thr Met Arg Asp Ser Gly Cys Phe Gly Arg Arg Leu Asp

1 5 10 15

Arg Ile Gly Ser Leu Ser Gly Leu Gly Cys Asn Val Leu Arg Arg Tyr

20 25 30

配列番号：7

配列の長さ：45

配列の型：

鎖の数：

トポロジー：直鎖状

配列の種類：

配列

Ser Gln Asp Ser Ala Phe Arg Ile Gln Glu Arg Leu Arg Asn Ser Lys

1 5 10 15

Met Ala His Ser Ser Ser Cys Phe Gly Gln Lys Ile Asp Arg Ile Gly

20 25 30

Ala Val Ser Arg Leu Gly Cys Asp Gly Leu Arg Leu Phe

35 40 45

配列番号：8

配列の長さ：29

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

配列



Met Met Arg Asp Ser Gly Cys Phe Gly Arg Arg Ile Asp Arg Ile Gly

1

5

10

15

Ser Leu Ser Gly Met Gly Cys Asn Gly Ser Arg Lys Asn

20

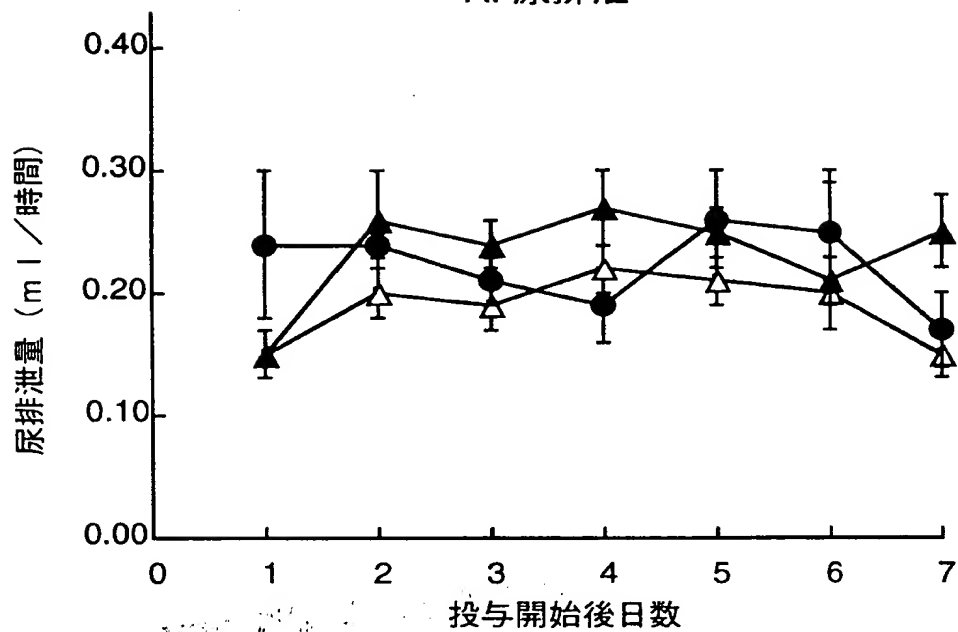
25

## 請 求 の 範 囲

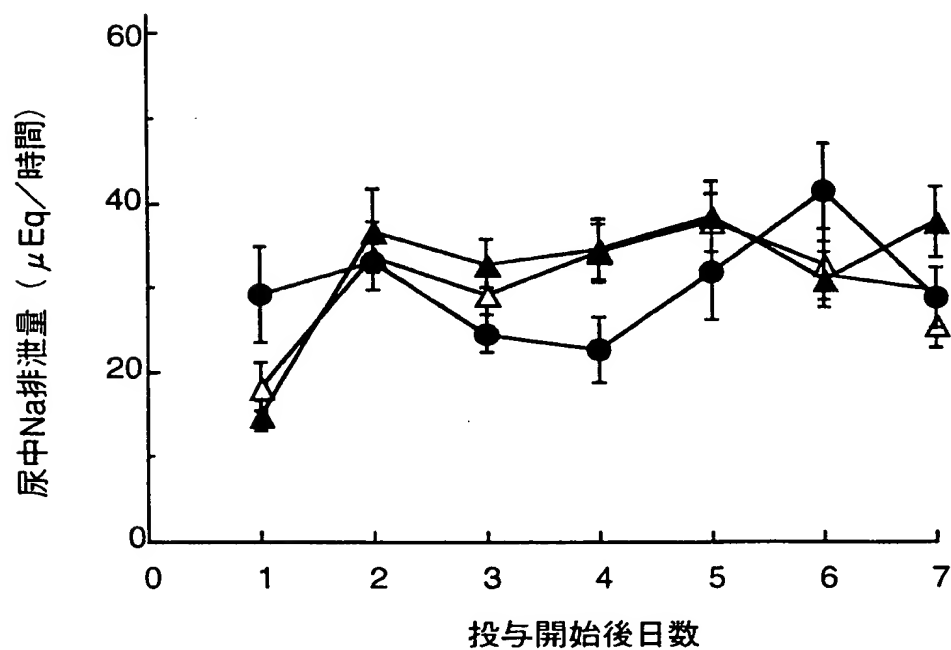
1. ナトリウム利尿ペプチド受容体であるグアニリル・サイクラーゼ A に作用し、サイクリックグアノシンモノフォスフェート産生を亢進し得る物質を有効成分とする心肥大に基づく心臓病治療用医薬組成物。
2. 心肥大に基づく心臓病が慢性心不全である請求項 1 に記載の医薬組成物。
3. ナトリウム利尿ペプチド受容体であるグアニリル・サイクラーゼ A に作用し、サイクリックグアノシンモノフォスフェート産生を亢進し得る物質がナトリウム利尿ペプチドである請求項 1 に記載の医薬組成物。
4. ナトリウム利尿ペプチドが心房性ナトリウム利尿ペプチドである請求項 3 に記載の医薬組成物。
5. ナトリウム利尿ペプチドが脳性ナトリウム利尿ペプチドである請求項 3 に記載の医薬組成物。

Fig. 1

## A. 尿排泄

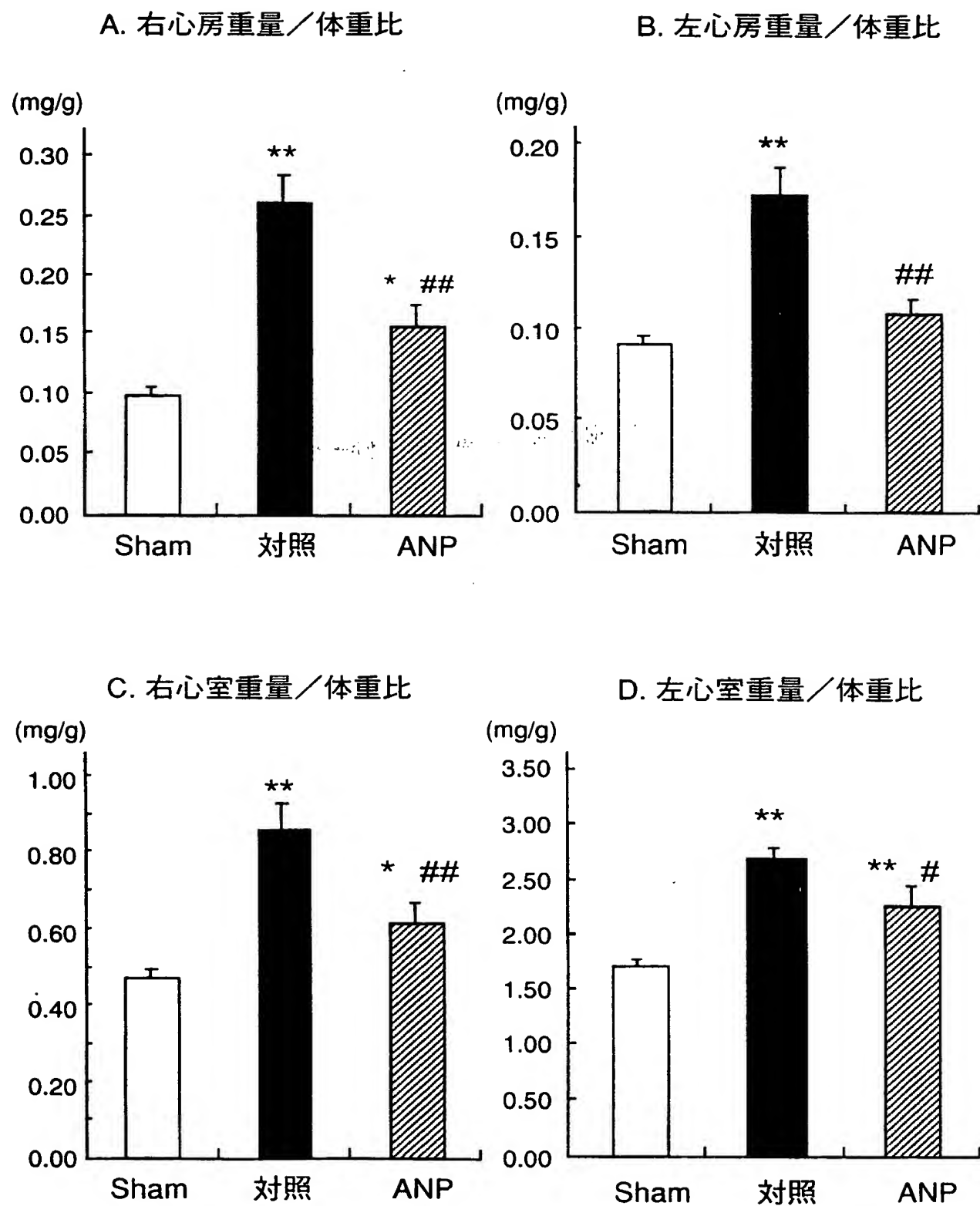


## B. 尿中ナトリウム排泄



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

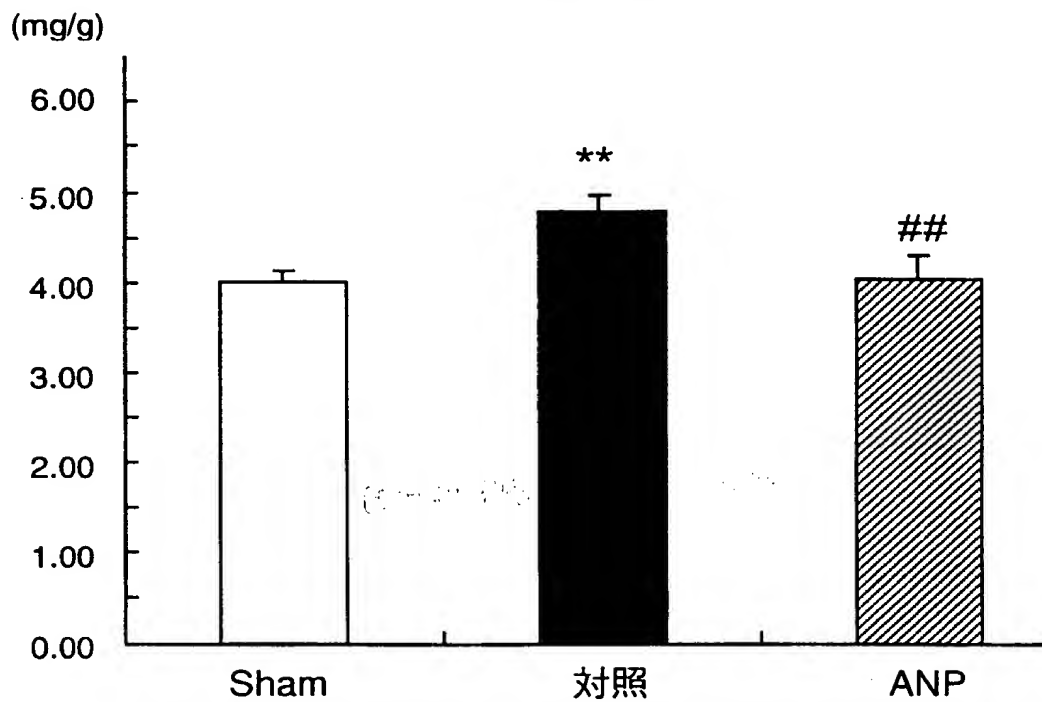
Fig. 2



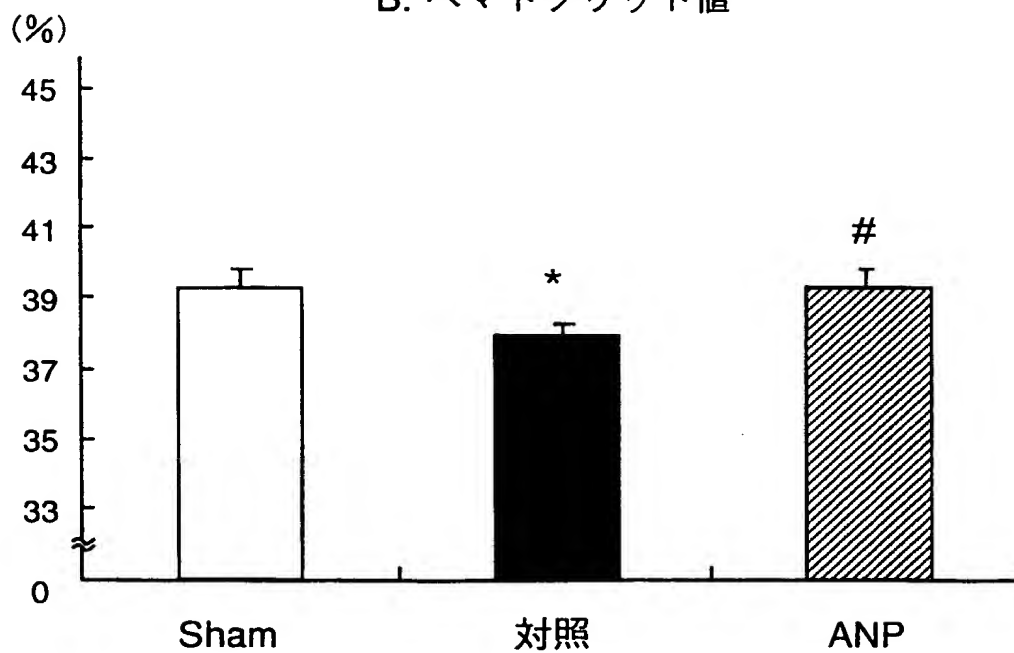
**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Fig. 3

## A. 肺重量／体重比



## B. ヘマトクリット値



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/00483

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl<sup>6</sup> A61K38/22, A61K45/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl<sup>6</sup> A61K38/22

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Li Cao, "Natriuretic Peptides Inhibit DNA Synthesis in Cardiac Fibroblasts", Hypertension, Vol. 25, No. 2 (1995) p.227-234	1-5
X	Hirofumi Yasue, "Clinical Significance of ANP and BNP (in Japanese)", Medicine Today, Vol. 47, No. 1 (1992) p.93-101, particularly p.97, p.98, p.100	1-5
X	Hiroshi Ito, "Cardiomegaly, Cardiac Failure and Natriuretic Peptide Family", Strides of Medicine, Vol. 165, No. 10 (1993) p.739-744, particularly p.743	1-5
X	JP, 61-167624, A (Merck & Co., Inc.), July 29, 1986 (29. 07. 86), Particularly Claims & EP, 189084, A & US, 4652549, A	1-5

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search  
April 28, 1998 (28. 04. 98)

Date of mailing of the international search report  
May 12, 1998 (12. 05. 98)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/00483

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP, 63-303998, A (Merrel Dow Pharmaceuticals Inc.), December 12, 1988 (12. 12. 88), Particularly page 6, lower left column, line 19 & EP, 291999, A	1-5
A	Lesley A. Brown, "Differential Regulation of Natriuretic Peptide Receptor Messenger RNAs during the Development of Cardiac Hypertrophy in the Rat", J. Postgrad. Med. Sch. Vol. 92, No. 6 (1993) p.2702-2712	1-5
Y	Meihong Lin, "Cicletanine Inhibits Endothelin-1- Induced Hypertrophy of Rat Cardiomyocytes", Pharmacometrics, Vol. 51, No. 1 (1996) p.1-6	1
Y	Chemical Abstracts, Vol. 122, Abstract Number 72083 (1995) (Gardner, David G. "Molecular biology of the natriuretic peptides", Vol. 4, No. 4 (1994) p.159-164)	1

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.<sup>6</sup> A61K38/22, A61K45/00

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.<sup>6</sup> A61K38/22

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	Li Cao, "Natriuretic Peptides Inhibit DNA Synthesis in Cardiac Fibroblasts", Hypertension, Vol. 25, No. 2 (1995) P. 227-234	1-5
X	秦江 弘文, 「ANPとBNPの臨床的意義」, 最新医学, Vol. 47, No. 1 (1992) P. 93-101, 特にP. 97, P. 98, P. 100	1-5
X	伊藤 裕, 「心肥大・心不全とナトリウム利尿ペプチドファミリー」, 医学の歩み, Vol. 165, No. 10 (1993) P.	1-5

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

28.04.98

国際調査報告の発送日

12.05.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 聖子

印

4C 9051

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き). 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	739-744, 特に P. 743	
X	J P. 61-167624. A (メルク エンド カムパニー インコーポレーテッド) 29. 7月. 1986 (29. 07. 86), 特にクレーム & EP, 189084, A & US, 4652549, A	1-5
X	J P. 63-303998. A (メレルダウファーマスーティカルズ インコーポレーテッド) 12. 12月. 1988 (12. 12. 88), 特に第6頁左下欄第19行目 & EP, 291999, A	1-5
A	Lesley A. Brown, "Differential Regulation of Natriuretic Peptide Receptor Messenger RNAs during the Development of Cardiac Hypertrophy in the Rat", J. Postgrad. Med. Sch. Vol. 92, No. 6 (1993) P. 2702-2712	1-5
Y	Meihong Lin, "Cicletanine Inhibits Endothelin-1-Induced Hypertrophy of Rat Cardiomyocytes", Pharmacometrics, Vol. 51, No. 1 (1996) P. 1-6	1
Y	Chemical Abstracts, Vol. 122, Abstract Number. 72083 (1995) (Gardner, David G. "Molecular biology of the natriuretic peptides", Vol. 4, No. 4 (1994) P. 159-164)	1

特許協力条約に基づく国際出願

願 書

出願人は、この国際出願が特許協力条約に従って処理されることを請求する。

国際出願番号	管理官庁記入欄
国際出願日	PCT 05.2.98 受領印
(受付印)	

出願人又は代理人の書類記号  
(希望する場合、最大12字) F 8 0 1 - P C T

第 I 欄 発明の名称

心肥大に基づく心臓病治療用医薬組成物

第 II 欄 出願人

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

サントリー株式会社

SUNTORY LIMITED

〒530-0004 日本国大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号

1-40, Dojimahama 2-chome, Kita-ku, Osaka-shi, OSAKA 530-0004 JAPAN

☐ この欄に記載した者は、  
発明者でもある。

電話番号:

ファクシミリ番号:

加入電信番号:

国籍(国名): 日本国 JAPAN

住所(国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の  
指定国についての出願人である:

☐ すべての指定国

☒ 米国を除くすべての指定国

☐ 米国のみ

☐ 追記欄に記載した指定国

第 III 欄 その他の出願人又は発明者

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

猪 俣 則 夫 INOMATA Norio

〒618-8503 日本国大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号

サントリー株式会社 生物医学研究所内

C/O Suntory Institute for Biomedical Research  
1-1, Wakayamadai 1-chome, Shimamoto-cho, Mishima-gun,  
OSAKA 618-8503 JAPAN

この欄に記載した者は  
次に該当する:

☐ 出願人のみである。

☒ 出願人及び発明者である。

☐ 発明者のみである。  
(ここにレ印を付したとき  
は、以下に記入しないこと)

国籍(国名): 日本国 JAPAN

住所(国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の  
指定国についての出願人である:

☐ すべての指定国

☐ 米国を除くすべての指定国

☒ 米国のみ

☐ 追記欄に記載した指定国

☒ その他の出願人又は発明者が続票に記載されている。

第 IV 欄 代理人又は共通の代表者、通知のあて名

次に記載された者は、国際機関において出願人のために行動する:

☒ 代理人

☐ 共通の代表者

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

弁理士(7751) 石 田 敬 ISHIDA Takashi

〒105-8423 日本国東京都港区虎ノ門三丁目5番1号

虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所

A. AOKI & ASSOCIATES

Toranomon 37 Mori Bldg., 5-1, Toranomon 3-chome, Minato-ku,  
TOKYO 105-8423 JAPAN

電話番号:

03-5470-1900

ファクシミリ番号:

03-5470-1911

加入電信番号:

J 26282

☐ 代理人又は共通の代表者が選任されておらず、上記枠内に特に通知が送付されるあて名を記載している場合は、レ印を付す

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 第Ⅲ欄の続き その他の出願人又は発明者

この続票を使用しないときは、この用紙を願書に含めないこと。

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

山 木 明 YAMAKI Akira

〒618-8503 日本国大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号  
サントリー株式会社 生物医学研究所内C/O Suntory Institute for Biomedical Research  
1-1, Wakayamadai 1-chome, Shimamoto-cho, Mishima-gun,  
OSAKA 618-8503 JAPANこの欄に記載した者は、  
次に該当する:☐ 出願人のみである。☒ 出願人及び発明者である。☐ 発明者のみである。  
(ここにレ印を付したとき  
は、以下に記入しないこと)

国籍(国名): 日本国 JAPAN

住所(国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の

指定国についての出願人である:

☐ すべての指定国☐ 米国を除くすべての指定国☒ 米国のみ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

古 谷 真 優 美 FURUYA Mayumi

〒618-8503 日本国大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号  
サントリー株式会社 生物医学研究所内C/O Suntory Institute for Biomedical Research  
1-1, Wakayamadai 1-chome, Shimamoto-cho, Mishima-gun,  
OSAKA 618-8503 JAPANこの欄に記載した者は、  
次に該当する:☐ 出願人のみである。☒ 出願人及び発明者である。☐ 発明者のみである。  
(ここにレ印を付したとき  
は、以下に記入しないこと)

国籍(国名): 日本国 JAPAN

住所(国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の

指定国についての出願人である:

☐ すべての指定国☐ 米国を除くすべての指定国☒ 米国のみ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

日 高 寿 範 HIDAKA Toshinori

〒618-8503 日本国大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号  
サントリー株式会社 生物医学研究所内C/O Suntory Institute for Biomedical Research  
1-1, Wakayamadai 1-chome, Shimamoto-cho, Mishima-gun,  
OSAKA 618-8503 JAPANこの欄に記載した者は、  
次に該当する:☐ 出願人のみである。☒ 出願人及び発明者である。☐ 発明者のみである。  
(ここにレ印を付したとき  
は、以下に記入しないこと)

国籍(国名): 日本国 JAPAN

住所(国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の

指定国についての出願人である:

☐ すべての指定国☐ 米国を除くすべての指定国☒ 米国のみ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

この欄に記載した者は、  
次に該当する:☐ 出願人のみである。☐ 出願人及び発明者である。☐ 発明者のみである。  
(ここにレ印を付したとき  
は、以下に記入しないこと)

国籍(国名):

住所(国名):

この欄に記載した者は、次の

指定国についての出願人である:

☐ すべての指定国☐ 米国を除くすべての指定国☐ 米国のみ☐ 追記欄に記載した指定国☐ その他の出願人又は発明者が他の続票に記載されている。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



## 第Ⅴ欄 国の指定

規則 4.9(a)の規定に基づき次の指定を行う(該当する□にレ印を付すこと; 少なくとも1つの□にレ印を付すこと)。

## 区域特許

- ☐ **AP** **ARIPO特許** : GH ガーナ Ghana, KE ケニア Kenya, LS レソト Lesotho, MW マラウイ Malawi, SD スーダン Sudan, SZ スワジランド Swaziland, UG ウガンダ Uganda, ZW ジンバブエ Zimbabwe, 及びハラレプロトコルと特許協力条約の締約国である他の国

☐ **EA** **ユーラシア特許** : AM アルメニア Armenia, AZ アゼルバイジャン Azerbaijan, BY ベラルーシ Belarus, KG キルギスタン Kyrgyzstan, KZ カザフスタン Kazakhstan, MD モルドヴァ Republic of Moldova, RU ロシア連邦 Russian Federation, TJ タジキスタン Tajikistan, TM トルクメニスタン Turkmenistan, 及びユーラシア特許条約と特許協力条約の締約国である他の国

☒ **EP** **ヨーロッパ特許** : AT オーストリア Austria, BE ベルギー Belgium, CH and LI スイス及びリヒテンシュタイン Switzerland and Liechtenstein, DE ドイツ Germany, DK デンマーク Denmark, ES スペイン Spain, FI フィンランド Finland, FR フランス France, GB 英国 United Kingdom, GR ギリシャ Greece, IE アイルランド Ireland, IT イタリア Italy, LU ルクセンブルグ Luxembourg, MC モナコ Monaco, NL オランダ Netherlands, PT ポルトガル Portugal, SE スウェーデン Sweden, 及びヨーロッパ特許条約と特許協力条約の締約国である他の国

☐ **OA** **OAPI特許** : BF ブルキナ・ファソ Burkina Faso, BJ ベニン Benin, CF 中央アフリカ Central African Republic, CG コンゴ Congo, CI 象牙海岸 Côte d'Ivoire, CM カメルーン Cameroon, GA ガボン Gabon, GN ギニア Guinea, ML マリ Mali, MR モリタニア Mauritania, NE ニジェール Niger, SN セネガル Senegal, TD チャード Chad, TG トーゴ Togo, 及びアフリカ知的所有権機構と特許協力条約の締約国である他の国 (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には点線上に記載する)

**国内特許** (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には点線上に記載する)

- [illegible]

以下の□は、この様式の施行後に特許協力条約の締約国となった国を指定（国内特許のために）するためのものである

[illegible]

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

追記欄 この追記欄を使用しないときは、この用紙を願書に含めないこと。

以下の場合にこの欄を使用する。

1. 全ての情報を該当する欄の中に記載できないとき。

この場合は、「第何欄……の続き」（欄番号を表示する）と表示し、記載できない欄の指示と同じ方法で情報を記載する。；特に、

(i) 出願人及び／又は発明者として3人以上いる場合で、「続表」を使用できないとき。

この場合は、「第Ⅱ欄の続き」と表示し、第Ⅱ欄で求められている同じ情報を、それぞれの者について記載する。

(ii) 第Ⅱ欄又は第Ⅲ欄の枠の中で、「追記欄に記載した指定国」にレ印を付しているとき。

この場合は、「第Ⅱ欄の続き」、「第Ⅲ欄の続き」又は「第Ⅱ欄及び第Ⅲ欄の続き」（このような場合があれば）と記載し、該当する出願人の氏名（名称）を表示し、（それぞれの）氏名（名称）の次にその者が出願人となる指定国（及び／又は、該当する場合は、ARIPO特許・ユーラシア特許・ヨーロッパ特許・OAPI特許）を記載する。

(iii) 第Ⅱ欄又は第Ⅲ欄の枠の中で、発明者又は発明者及び出願人である者が、すべての指定国のための又は米国のための発明者ではないとき。

この場合は、「第Ⅱ欄の続き」、「第Ⅲ欄の続き」又は「第Ⅱ欄及び第Ⅲ欄の続き」（このような場合があれば）と記載し、該当する発明者の氏名を表示し、その者が発明者である指定国（及び／又は、該当する場合は、ARIPO特許・ユーラシア特許・ヨーロッパ特許・OAPI特許）を記載する。

(iv) 第Ⅳ欄に示す代理人以外に代理人がいるとき。

この場合は、「第Ⅳ欄の続き」と表示し、第Ⅳ欄で求められている同じ情報を、それぞれの代理人について記載する。

(v) 第Ⅴ欄において指定国（又は、OAPI特許）が、「追加特許」又は「追加証」を伴うとき、又は、米国が「継続」又は「一部継続」を伴うとき。

この場合は、「第Ⅴ欄の続き」及び該当するそれぞれの指定国（又は、OAPI特許）を表示し、それぞれの指定国（又は、OAPI特許）の後に、原特許又は原出願の番号及び特許付与日又は原出願日を記載する。

(vi) 優先権を主張する先の出願が4件以上あるとき。

この場合は、「第Ⅵ欄の続き」と表示し、第Ⅵ欄で求められている同じ情報を、それぞれの先の出願について記載する。

2. 出願人が、指定官庁について不利にならない開示又は新規性の喪失についての例外に関する国内法の適用を請求するとき。

この場合は、「不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する陳述」と表示し、以下にその内容を記述する。

#### IV 欄 の 続 き

氏 名 弁理士(8787) 福 本 積 FUKUMOTO Tsumoru

氏 名 弁理士(8826) 戸 田 利 雄 TODA Toshio

氏 名 弁理士(8289) 西 山 雅 也 NISHIYAMA Masaya

あて名 IV欄に記載のあて名に同じ The same address as Box IV

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 第Ⅵ欄 優先権主張

他の優先権の主張（先の出願）が追記欄に記載されている ☐

下記の先の出願に基づき優先権を主張する

国名 (その国において又はその国 について先の出願がされた)	先の出願の出願日 (日. 月. 年)	先の出願の出願番号	先の出願を受理した官庁名 (広域出願又は国際出 願の場合のみ記入)
(1) 日本国 JAPAN	05. 02. 97	特願平 9-22594号	
(2)			
(3)			

先の出願の認証謄本が、本件国際出願の受理官庁（日本国特許庁）で発行される場合であって、優先権書類送付請求書を本件国際出願に添付するときは、次の□にレ印を付すこと。

☐ 上記（ ）の番号の先の出願のうち、次の（ ）の番号のものについては、出願書類の認証謄本を作成し国際事務局へ送付することを、受理官庁（日本国特許庁の長官）に対して請求している。

## 第Ⅶ欄 国際調査機関

国際調査機関（ISA）の選択

ISA / J P

先の調査 上記国際調査機関による別の調査（国際・国際型又はその他）が既に実施又は請求されており、可能な限り当該調査の結果を今回の国際調査の基礎とすることを請求する場合に記入する。先の調査に関連する出願（若しくはその翻訳）又は関連する調査請求を表示することにより、当該先の調査又は請求を特定する。

出願名（又は広域官庁）

出願日（日. 月. 年）

出願番号

## 第Ⅷ欄 照合欄

この国際出願の用紙の枚数は次のとおりである。

- |          |      |
|----------|------|
| 1. 願書    | 5 枚  |
| 2. 明細書   | 25 枚 |
| 3. 請求の範囲 | 1 枚  |
| 4. 要約書   | 1 枚  |
| 5. 図面    | 3 枚  |
| 合計       | 35 枚 |

この国際出願には、以下にチェックした書類が添付されている。

- |  |   |
|--|---|
| 1. <input type="checkbox"/> 別個の記名押印された委任状            | 5. <input checked="" type="checkbox"/> 手数料計算用紙                          |
| 2. <input type="checkbox"/> 包括委任状の写し                 | <input checked="" type="checkbox"/> 納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面             |
| 3. <input type="checkbox"/> 記名押印（署名）の説明書             | <input type="checkbox"/> 国際事務局の口座への振込みを証明する書面                           |
| 4. <input type="checkbox"/> 優先権書類（上記第Ⅵ欄の（ ）の番号を記載する） | 6. <input type="checkbox"/> 寄託した微生物に関する書面                               |
|  | 7. <input checked="" type="checkbox"/> スクレオチド及び／又はアミノ酸配列リスト（フレキシブルディスク） |
|  | 8. <input checked="" type="checkbox"/> その他（例えば、優先権書類送付請求書と具体的に記載する）     |
|  | ・ フレキシブルディスクの記録形式等の情報を記載した書面  |
|  | ・ 陳述書   |

要約書とともに公表する図として 第 \_\_\_\_\_ 図 を提示する（図面がある場合）

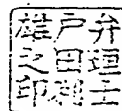
## 第Ⅸ欄 提出者の記名押印

各人の氏名（名称）を記載し、その次に押印する。

石 田 敬



戸 田 利 雄



福 本 積



西 山 雅 也



1. 国際出願として提出された書類の実際の受理の日

受理官庁記入欄

3. 国際出願として提出された書類を補完する書類又は図面であって

2. 図面

☐ 受理された☐ 不足図面がある

その後期間内に提出されたものの実際の受理の日（訂正日）

4. 特許協力条約第11条(2)に基づく必要な補完の期間内の受理の日

5. 出願人により特定された  
国際調査機関

I S A / J P

6. ☐ 調査手数料未払いにつき、国際調査機関に調査用写しを送付していない

## 国際事務局記入欄

記録原本の受理の日

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**